

PREGLEDNI RAD

**Biološka detoksifikacija mikotoksina:
dosadašnje spoznaje i budući aspekti***Biological detoxification of mycotoxins:
current knowledge and future aspects*Jelka Pleadin¹, Manuela Zadravec², Jadranka Frece³, Tonči Rezić³, Ivana Kmetič³, Ksenija Markov^{3*}¹ Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za analitičku kemiju, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska² Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za mikrobiologiju hrane za životinje, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska³ Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

*Corresponding author: ksenija.markov@pbf.hr

Sažetak

Mikotoksini predstavljaju toksične tvari koje učestalo kontaminiraju hranu i hranu za životinje, uzrokujući štetne učinke na zdravlje ljudi i životinja te značajne ekonomske gubitke diljem svijeta. Ovaj rad daje pregled dosadašnjih istraživanja i spoznaja o metodama biološke detoksifikacije mikotoksina. Biološka detoksifikacija podrazumijeva primjenu mikroorganizama i njihovih enzima s ciljem razgradnje ili modifikacije strukture mikotoksina, a rezultira transformacijom izvornih spojeva i nastankom manje toksičnih produkata, odnosno dekontaminacijom mikotoksina. Međutim, dosadašnja istraživanja i dobivene spoznaje još uvijek nisu rezultirale primjenom u prehrambenoj i stočarskoj industriji odnosno odobravanjem njihove uporabe od strane zakonodavstva. Potrebna su daljnja istraživanja o mehanizmima biorazgradnje, sigurnosti mikroorganizama, odnosno utjecaju primjene bioloških metoda na nutritivna svojstva i nastale produkte degradacije, kako bi metode biološke detoksifikacije mikotoksina mogle biti učinkovito primjenjene u industriji.

Gljučne riječi: mikotoksini, detoksifikacija, biološke metode, hrana, hrana za životinje**Abstract**

Mycotoxins are toxic substances that frequently contaminate food and feed, causing adverse effects on human and animal health and significant economic losses around the world. This paper gives an overview of the current research and knowledge of mycotoxin biological detoxification methods. Biological detoxification implies the use of microorganisms and their enzymes with the aim of degrading or modifying the mycotoxin structure, resulting in the transformation of the original compounds and the formation of less toxic products, or decontamination of mycotoxins. However, previous research and findings have not yet resulted in application in the food and livestock industry, or by approving their use by legislation. Further research is needed on biodegradation mechanisms, microorganism safety, or influence of the application of biological methods on nutritional properties and resulting degradation products, so that mycotoxin biological detoxification methods can be effectively applied in the industry.

Keywords: mycotoxins, detoxification, biological methods, food, feed**Uvod**

Mikotoksini kao produkti toksikogenih plijesni predstavljaju vrlo česte kontaminante hrane i hrane za životinje, koji uzrokuju štetne učinke po zdravlje ljudi i životinja i dovode do značajnih ekonomskih gubitaka diljem svijeta (Creppy, 2002; Geraldo i sur., 2006; Bryden, 2012). Pritom žitarice predstavljaju njihov najznačajniji izvor (Schatzmayer i Streit, 2013), budući da plijesni koje ih produciraju učestalo rastu na žitaricama za vrijeme uzgoja, ali i tijekom skladištenja (Schothorst i van Egmond, 2004; Glenn, 2007). Čimbenici utjecaja na pojavnost mikotoksina uključuju prisutnost toksikotvornih plijesni, razinu vlažnosti, temperaturu, aeraciju, prisutnost insekata i mehaničkih oštećenja zrnja (Sforza i sur., 2006). Tri glavna čimbe-

nika doprinose povećanju svijesti o opasnosti od onečišćenja mikotoksinima, i to: napredak analitičke kemije koja primjenom sofisticiranih metoda omogućava detekciju mikotoksina koji ranije nisu bili poznati; toksikološke studije koje ukazuju na negativne učinke mikotoksina te dostupnost jednostavnih i ekonomičnih metoda u rutinskim analizama mikotoksina još prije početka prerade sirovina u prehrambenoj industriji i industriji stočne hrane.

Mikotoksini u organizmu mogu izazivati mutagene, kancerogene, imunosupresivne, genotoksične te ostale štetne učinke. Akutni i kronični učinci mikotoksina predstavljaju ozbiljan problem, naročito u zemljama u razvoju (Karlovsky, 1999). Najznačajniji razlog zabrinutosti pritom predstavlja kronična izloženost niskim razinama različitih mikotoksina, koji u orga-



nizmu mogu djelovati pojedinačno, ali i sinergistički (Pleadin i sur., 2018). Budući da učinkovita prevencija kontaminacije nije uvijek moguća od velikog značaja je daljnji razvoj strategija eliminacije ili inaktivacije mikotoksina te njihova primjena u industriji (Miller, 2016). U razdoblju prije i tijekom žetve, prikladnim sušenjem zrnja, sortiranjem i skladištenjem, moguće je smanjiti količinu mikotoksina u finalnim proizvodima. Međutim, ukoliko se kontaminacija ipak dogodi, jedinstvena metoda koja bi bila jednako djelotvorna u uklanjanju većeg broja mikotoksina u različitim materijalima još uvijek nije pronađena. Budući da je zajedničko pojavljivanje mikotoksina puno češće nego slučajevi kontaminacije samo jednim mikotoksinom, potrebna su istraživanja koja se odnose na istovremeno uklanjanje većeg broja različitih mikotoksina.

Općenito se metode uklanjanja odnosno redukcije mikotoksina mogu podijeliti na fizikalne, kemijske i biološke metode, a njihova učinkovitost je ovisna o brojnim parametrima, od kojih najznačajnije predstavljaju sastav proizvoda, sadržaj vlage i razina kontaminacije (Pleadin i sur., 2014a,b; Pleadin i sur., 2018). Fizikalne metode podrazumijevaju mehaničko odstranjivanje onečišćenih frakcija iz sirovina sortiranjem, čišćenjem i mljevenjem te primjenu topline, ozračivanje i uporabu adsorbensa (Vanhoutte i sur., 2016) te primjenu hladne plazme (Bong i sur., 2007; Schlüter i sur., 2013; Kriz i sur., 2015), fotoradijacije (Herzallah i sur., 2008; Fanelli i sur., 2016) i mikrovalnih tretmana (Bretz i sur., 2006). Uporaba kemijskih metoda, kao što su amonizacija (Park i sur., 1988), kiselinski tretmani (Aiko i sur., 2016), alkalna hidroliza (Müller, 1983), peroksidacija (Fouler i sur., 1994), ozoniranje (Maeba i sur., 1988) i upotreba bisulfita (Altug i sur., 1990), ograničena je zbog potencijalne toksičnosti ovih tvari i njihove slabe učinkovitosti, ali i visokih troškova provedbe postupka, kao i negativnih učinaka na kakvoću sirovina (Kushiro, 2008; Numanoglu i sur., 2012; Cheli i sur., 2013). Svakako, nedovoljna saznanja o produktima degradacije i promjene nutritivnog sastava i organoleptičkih svojstava hrane i hrane za životinje prouzročene fizikalnim i kemijskim tretmanima još uvijek ograničavaju primjenu navedenih metoda.

Biološke metode detoksifikacije mikotoksina iz hrane i hrane za životinje predstavljaju obećavajuću strategiju, a sastoje se od upotrebe mikroorganizama ili enzima koji su sposobni metabolizirati, uništiti ili deaktivirati mikotoksine do stabilnih, manje toksičnih ili bezopasnih spojeva (Commission Regulation 2015/786/EU; Karlovsky, 2014). U ovom radu dan je pregled bioloških metoda čija primjena može rezultirati detoksifikacijom mikotoksina te sprječavanjem njihovih štetnih učinaka po zdravlje ljudi i životinja.

Pojam biološke detoksifikacije

Biotransformacija mikotoksina može se definirati kao degradacija mikotoksina u netoksične metabolite primjenom bakterija, kvasaca i plijesni ili enzima (Boudergue i sur., 2009). Istraživanja pokazuju da upotreba mikroorganizama u biotransformaciji mikotoksina, putem deepoksidacije ili drugih mehanizama, može biti učinkovit način redukcije mikotoksina (Awad i sur., 2010; Murugesan i sur., 2015). Primjena bioloških agenasa u ove svrhe je posebno značajna u slučaju potrebe za višekratnom primjenom ili kada se primijenjeni mikroor-

ganizam uobičajeno koristi u industrijskim procesima prerade hrane (Hassan i sur., 2015; Hassan i Bullerman, 2013).

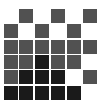
U odnosu na fizikalne i kemijske metode, koje imaju jaču ili slabiju učinkovitost detoksifikacije, biološke metode imaju slabiji utjecaj na nutritivnu vrijednost hrane, naročito u usporedbi s kemijskim agensima. Međutim, važno je pritom istaknuti da su biološke metode, u odnosu na fizikalne i kemijske, znatno manje i istraživane (Karlovsky, 1999; Karlovsky i sur., 2016). Pojam biološke detoksifikacije još uvijek nije jasno definiran te se i uporaba aditiva za vezanje mikotoksina u hrani, kao i brojne druge primjene u prehrambenoj industriji, svrstavaju u ovu skupinu metoda. Čak se i miješanje kontaminiranog s nekontaminiranim materijalom, kako bi se koncentracija mikotoksina smanjila na prihvatljive razine, nekada smatrala biološkom metodom redukcije mikotoksina (Charmley i Prelusky, 1994; Charmley i sur., 1995; Karlovsky, 1999).

Bhatnagar i sur. (1991) su biološku detoksifikaciju definirali kao enzimsku degradaciju ili biotransformaciju toksina pomoću mikroorganizama koji predstavljaju izvor enzima za detoksifikaciju, a koja u konačnici rezultira nastankom manje toksičnih produkata. Poznato je da mikroflora probavnog trakta kod životinja (poglavito preživača) pokazuje detoksifikacijske aktivnosti prema aflatoksinima, okratoksinima i trihotecenima. Biološka detoksifikacija mikotoksina u biljaka može se promatrati na polju i tijekom skladištenja nakon žetve, a pouzdani podaci o ovim složenim mehanizmima mogu se dobiti isključivo iz definiranih sustava pod kontroliranim uvjetima. Čiste kulture bakterija, kvasca i plijesni koje detoksificiraju mikotoksine izolirane su iz složenih mikrobni populacija, a primjena čistih kultura rezultira detoksifikacijom aflatoksina, fumonizina, fuzarične kiseline, okratoksina A, oksalne kiseline, patulina, trihotecena i zearalenona (Karlovsky, 1999).

Upotreba mikroorganizama za detoksifikaciju mikotoksina u hrani zahtijeva određene uvjete (Jard i sur., 2011): (i) prvi korak predstavlja identifikaciju potencijala degradacije mikotoksina pomoću određenog mikroorganizma; (ii) svaki produkt koji nastaje mora biti identificiran i njegova toksičnost treba biti ispitana; (iii) nastali produkti moraju biti netoksični; (iv) biotransformacija mora biti brza i mikroorganizmi moraju biti učinkoviti u različitim uvjetima prisutnosti kisika i pH vrijednosti, pogotovo kada se transformacija odvija tijekom probave; (v) mikroorganizmi moraju biti nepatogeni; (vi) mikroorganizmi moraju biti aktivni u složenom okolišu i ne smiju biti inhibirani nutrijentima; (vii) učinkovitost transformacije mora se procijeniti *in vivo*.

Primjena mikroorganizama

Bakterije, kvasci i plijesni su mikroorganizmi koji tijekom svog rasta otpuštaju metabolite koji se mogu iskoristiti u biodetoksifikaciji hrane i hrane za životinje. Šezdesetih godina prošlog stoljeća, Ministarstvo poljoprivrede SAD-a je provelo istraživanje mikroorganizama za razgradnju mikotoksina, posebno po pitanju aflatoksina (Ciegler i sur., 1966). Broj mikroorganizama prijavljenih za detoksifikaciju mikotoksina iz prehrambenih proizvoda bio je značajan (He i sur., 2015; Hathout i Aly, 2014; He i sur., 2016). Identificirani su brojni sojevi bakterija, kvasaca i plijesni koji imaju potencijal detoksifikacije, no mehanizmi njihova djelovanja nisu utvrđeni. Nadalje, nije ispitano ni mogu li se dobiveni rezultati detoksifikacije pripisati fizičkoj adsorpciji ili enzimskoj razgradnji mikotoksina.



Stoga njihova primjena putem zakonodavstva još uvijek nije odobrena (Karlovsky i sur., 2016).

Pojedina istraživanja pokazala su da upotreba mikroorganizama ima perspektivan učinak u degradaciji mikotoksina iz

hrane i hrane za životinje (tablica 1. i 2.), a zbog unaprijeđenja biotehnologije i dokazanih kataboličkih sposobnosti mikrobnih populacija, u budućnosti se može očekivati njihova sve značajnija primjena.

Tablica 1. Primjena bioloških agenasa za detoksifikaciju mikotoksina u hrani i hrani za životinje (Shanakhat i sur., 2018)

Table 1. Application of biological agents for detoxification of mycotoxins in food and feed (Shanakhat et al., 2018)

Biološki agens	Produkt	Mikotoksin	Literatura
Bakterije mliječne kiseline (BMK)	Fermentirana hrana	aflatoksin M ₁	Ahlberg i sur., 2015
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Fermentirana hrana	okratoksin A aflatoksini	Petruzzi i sur., 2014
<i>Lactobacillus</i> spp	Kruh	aflatoksini	Saladino i sur., 2016
<i>Bacillus</i>	Hrana za životinje	trihoteceni	Zhu i sur., 2016
<i>Rhizopus oryzae</i>	Prerađena hrana	aflatoksini	Hackbart i sur., 2014

Tablica 2. Sojevi bakterija i plijesni koji inhibiraju rast *Aspergillus* spp. (Reddy i sur., 2010)

Table 2. Bacterial and fungal strains that inhibit growth of *Aspergillus* spp. (Reddy et al., 2010)

Bakterija/plijesan	<i>Aspergillus</i> spp.
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	<i>A. parasiticus</i>
<i>Acremonium zeae</i>	<i>A. flavus</i>
<i>Aspergillus flavus</i> ^a	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>A. flavus</i>
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>A. flavus</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>A. flavus</i>
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
<i>Lactobacillus sanfrancisco</i>	<i>Aspergillus</i> spp.
<i>Nannocystis exedens</i>	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>A. flavus</i>
<i>Ralstonia erythropolis</i>	<i>A. flavus</i>
<i>Streptococcus lactis</i> C10	<i>A. parasiticus</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i> 489	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. parasiticus</i>
<i>Trichoderma viride</i> i <i>Trichoderma harzianum</i>	<i>A. flavus</i>

^a atoksikogeni soj

Detoksifikacija kulturama bakterija

Nekoliko bakterijskih vrsta iz rodova kao što su što su *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Ralstonia* i *Burkholderia* spp., pokazale su sposobnost da inhibiraju rast plijesni i proizvodnju aflatoksina od strane *Aspergillus* spp. u laboratorijskim uvjetima (tablica 2.). Stalno se opisuju novi mikroorganizmi koji mogu ukloniti mikotoksine, no daljnja istraživanja često izostanu. Tipičan primjer za to je razgradnja aflatoksina B₁ pomoću *Rhodococcus erythropolis*, o kojoj su izvijestili Teniola i sur. (2005). Enzimi koje produciraju bakterije iz roda

Actinomyces pokazalo se da imaju veliku ulogu u redukciji aflatoksina (Ji i sur., 2016). Za bakterijsku vrstu *Flavobacterium aurantiacum* (Smiley i sur., 2000) utvrđeno je da može detoksificirati aflatoksin svojom ekstracelularnom enzimskom aktivnošću. Dokazano je da detoksifikacija mikotoksina fumonizina B₁ pomoću bakterije *Sphingopyxis* sp. obuhvaća najmanje dva enzimska koraka, uključujući početnu reakciju deesterifikacije, nakon čega slijedi deaminacija rezultirajućeg hidroliziranog fumonizina B₁ (Heinl i sur., 2010).

U istraživanjima Nesci i sur. (2005) i Palumbo i sur. (2006) utvrđeno je da veliki broj sojeva bakterija iz rodova *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Ralstonia* i *Burkholderia* mogu potpuno inhibirati rast *A. flavus* te time i spriječiti produkciju aflatoksina. U većini slučajeva, iako su se navedeni sojevi pokazali vrlo učinkovitim u suzbijanju rasta plijesni i toksina koje produciraju u laboratorijskim uvjetima, nisu rezultirali dobrom djelotvornošću na polju, zbog nemogućnosti prenošenja bakterijskih stanica na mjesta infekcije žitarica plijesnima iz roda *Aspergillus* (Dorner, 2004).

Detoksifikacija kulturama kvasaca i plijesni

Upotreba sojeva plijesni koji se koriste u proizvodnji hrane, a imaju sposobnost detoksifikacije mikotoksina je ograničena, te se svodi uglavnom na *Rhizopus* spp. Nedavno je utvrđena mogućnost detoksifikacije aflatoksina pomoću *Rhizopus oryzae* i *Trichoderma reesei* (Hackbart i sur., 2014), no i za ove mikroorganizme potrebna je provedba daljnjih znanstvenih istraživanja. Značajniji napredak u ovom području trebao bi omogućiti uspostavu sustava za biološku detoksifikaciju mikotoksina pri proizvodnji hrane i hrane za životinje, a za ciljanu detoksifikaciju mikotoksina do sada nije odobren niti jedan soj bilo kojeg mikroorganizma.

Već je 1988. godine pokazano da je plijesan *Clonostachys rosea* u velikoj mjeri kadra metabolizirati mikotoksin zearalenon u manje toksični estrogenu produkt (el-Sharkawy i Abul-Hajj, 1988). Objavljeno je da gljiva bijele truleži drva (*Phanerochaete sordid*) proizvodi peroksidazu, odgovornu za razgradnju aflatoksina (Wang i sur., 2011), ali je mehanizam djelovanja ostao nepoznat. Enzimi koji mogu detoksificirati



fumonizine pronađeni su u crnom kvascu (*Exophiala spinifera*) (Blackwell i sur., 1999) te su proizvedene genetički modificirane vrste kukuruza u kojima se detoksikacija fumonizina odvija zahvaljujući enzimima koji su prisutni u tom kvascu (Duvick, 2001).

Utvrđeno je i da enzim okratoksinaza podrijetlom iz *A. niger* cijepa fosfodieterske veze u okratoksinu A i prevodi ga u manje toksične spojeve i fenilalanin (Dobritzsch i sur., 2014). Rast soja kvasca *Debaryomyces hansenii* na tradicionalnim mesnim proizvodima suspreže rast okratoksikogene plijesni *Penicillium verrucosum*, a time reducira i produkciju okratoksina A (Peromingo i sur., 2018). Kvasac *Rhodospiridium paludigenum*, koji je značajan s aspekta učinkovitosti sprječavanja truljenja voća, razgrađuje patulin u manje toksičnu deoksipatulinsku kiselinu. Međutim, tretman inficiranih jabuka i krušaka pomoću *Rhodospiridium paludigenum* povećao je sadržaj patulina u voću, vjerojatno poticanjem odgovora producenta patulina na stresni podražaj (Zhu i sur., 2015ab). Sljedeći primjer potencijalno neželjene nuspojave biološke kontrole mikotoksina je primjer zearalenona. Naime, s obzirom na to da mikotoksin „štiti“ plijesan koja ga producira (Utermark i Karlovsky, 2007), primjene bioloških kontrolnih agensa na zrne žitarica kontaminiranih plijesnima iz roda *Fusarium* koje stvaraju zearalenon može potaknuti povećano stvaranje ovoga mikotoksina. Stoga je pri primjeni bioloških kontrolnih agensa u detoksifikaciji mikotoksina potrebno voditi računa i o mogućim negativnim ishodima primjene ovih metoda.

Detoksifikacija fermentacijom

Fermentacija predstavlja niz lančanih, ne odvojenih, enzimskih procesa koji se uobičajeno koriste tijekom procesa prerade hrane u prehrambenoj industriji, a temelji se na upotrebi mikroorganizama. Proces fermentacije može rezultirati transformacijom mikotoksina u netoksične spojeve kao posljedice mikrobne aktivnosti (Saladino i sur., 2016). Kao dio prirodne mikrobne populacije u spontanoj fermentaciji hrane i pića, koriste se uglavnom kvasci, osobito *Saccharomyces cerevisiae*, te bakterije mliječne kiseline (BMK). Kao prvi mikotoksini testirani na mikrobnu razgradnju bili su aflatoksini. Detoksifikacija aflatoksina M₁ kao glavnog aflatoksina u mlijeku pomoću BMK je višekratno istraživana. Utvrđeno je da BMK, iz rodova *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Lactococcus* i *Bifidobacterium*, dobro vežu aflatoksin te da mogu razgraditi odnosno smanjiti količinu aflatoksina u prehrambenom proizvodu (Popiel i sur., 2014; Saladino i sur., 2016; Jakopović i sur., 2018). Za okratoksin A i fumonizine je dokazano da je mehanizam detoksifikacije adsorpcija na staničnu stijenu BMK (Piotrowska, 2014; Niderkorn i sur., 2006).

Kulture kvasca *S. cerevisiae* koriste se u vinarstvu, pivarstvu i proizvodnji kiseloga tijesta. Pokazalo se da *S. cerevisiae* detoksicira mikotoksin patulin (Moss i Long, 2002), okratoksin A (Petruzzi i sur., 2014), aflatoksine (Topcu i sur., 2010) i zearalenon (Joannis-Cassan i sur., 2011) te time smanjuje razinu kontaminacije u fermentiranoj hrani. Proizvodnja piva predstavlja dobar primjer fermentacijske obrade koja može značajno utjecati na uklanjanje mikotoksina (Moss i Long, 2002).

Alkoholna fermentacija voćnih sokova uništava patulin te ga fermentirani proizvodi, kakvi su jabukovača i kruškovača,

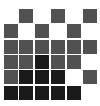
ne sadrže (FAO/WHO, 2003). Primjer tehnologije u kojoj se sadržaj mikotoksina može učinkovito smanjiti fermentacijom je proizvodnja tempeha u Indoneziji, koji se tradicionalno priprema od soje fermentirane kulturom *Rhizopus oligosporus*. Neke suvremene varijante tempeha sadrže kukuruz i kikiriki koji su podložni kontaminaciji aflatoksinima, a literaturni podaci govore da sojevi *Rhizopus* spp. detoksiciraju aflatoksine (Nakazato i sur., 1990).

Enzimska detoksifikacija

Enzimska detoksifikacijska aktivnost utvrđena je u bakterijama, kvascima i plijesnima (Vekiru i sur., 2010; Tan i sur., 2014; Popiel i sur., 2014; Vanhoutte i sur., 2016). Značajka detoksifikacije pomoću enzima je njihova specifičnost s obzirom na vrstu prehrambenog proizvoda (Wang i sur., 2011). Enzimi predstavljaju važne katalitičke agense koji se sve više koriste u proizvodnji hrane i rezultat su intenzivnog razvoja biotehnologije u posljednjem razdoblju (Pfliegler i sur., 2015), a enzimska kataliza zauzima jedinstveno mjesto među postupcima potencijalno prikladnim za detoksifikaciju mikotoksina.

Široka primjena enzima u preradi hrane ukazuje na to da je detoksikacija pojedinih mikotoksina enzimskim tretmanom kompatibilna s tehnologijama prerade hrane koje se uobičajeno koriste. Primjerice, u proizvodnji sira rekombinantna aspartatna proteaza kimozi predstavlja alternativu sirilu (Teuber, 1993), a u proizvodnji kruha se koristi pet različitih vrsta industrijskih enzima (Whitehurst i van Oort, 2010). Proizvodnja piva također predstavlja dobar primjer detoksifikacije mikotoksina pomoću enzima.

Mikotoksin okratoksin A, budući je amid, mogu hidrolizirati brojne peptidaze, uključujući karboksi-peptidazu i kimotripsin, te lipaze (Abrunhosa i sur., 2010). Sljedeći primjer potencijala industrijskih enzima u smislu smanjenja razine mikotoksina je detoksifikacija mikotoksina patulina, kojeg često sadrže voćni sokovi i voćne kašice. Proizvodnja sokova uključuje tretman pektinazama, arabanazama, glukoamilazama i drugim enzimima. Enzimska aktivnost koja rezultira razgradnjom patulina utvrđena je u brojnim bakterijama i kvascima. Produkti razgradnje manje su toksični od izvornoga spoja te je zaključeno da detoksifikacija patulina pomoću enzima može biti učinkovita (Zhu i sur., 2015ab). Razgradnju patulina vjerojatno je moguće kombinirati s enzimskim tretmanima koje se trenutno koristi u proizvodnji voćnih sokova i voćnih kašica. Neki od pročišćenih enzima kao što su oksidaze, peroksidaze, lakaze, izolirani iz jestivih gljiva (grmače, bukovače), ljekovitih gljiva (*Trametes versicolor*), hrena, bakterija (*Streptomyces coelicolor*, *Mycobacterium smegmatis*) i plijesni (*A. niger*) identificirani su kao sposobni za degradaciju aflatoksina i zearalenona (Liu i sur., 1998; Chitrangada i sur., 2000; Alberts i sur., 2009; Banu i sur. 2013). Za detoksifikaciju fumonizina navode se samo dva enzima (karboksilesteraze i aminotransferase) izolirana iz bakterija *Sphingomonas* sp. ATCC 55552 i *Sphingopyxis* sp. MTA144, a na tržištu je dostupan FUMzyme® (Biomin Holding GmbH, Getzersdorf, Austrija) u čijoj se formulaciji nalazi pročišćeni enzim esteraza izoliran iz genetički modificiranog kvasca *Komagataella pastoris* (Patent, 1995). EFSA je 2014. godine procijenila sigurnost i djelotvornost ovog dodatka hrani na bazi enzima (EFSA, 2014).



Uporaba enzima omogućava lako rukovanje, bez opasnosti od onečišćenja i sigurnosti za operatera u usporedbi s korištenjem živih mikroorganizama. Ovi postupci uobičajeno daju reproducibilne rezultate, čime predstavlja važnu strategiju redukcije mikotoksina (De Bellis i sur., 2015; Sato i sur., 2012; He i sur., 2016). Utvrđeno je da mnogi enzimi uklanjaju ili smanjuju kontaminaciju mikotoksinima, ali je njihova primjena na hranu vrlo ograničena zbog nedostatka informacija o potencijalnim toksičnim učincima produkata i njihovom utjecaju na kvalitetu hrane, a što predstavlja obavezne podatke za njihovu moguću uporabu u zemljama Europe u ove svrhe (Boudergue i sur., 2009). Pronađene su nove metode enzimske detoksifikacije (Ito i sur., 2013; He i sur., 2015), ali je tek potrebno utvrditi da li su enzimi odgovorni za ove procese pogodni i za primjenu u industrijskim uvjetima.

Enzimska detoksifikacija može se smatrati prikladnim načinom detoksifikacije različitih mikotoksina, no dokaze o učinkovitosti ovih metoda u preradi hrane tek treba podastrijeti. Stoga u Europskoj uniji do sada nije odobren niti jedan enzim u svrhu detoksifikacije mikotoksina, a identifikacija i karakterizacija enzima u ove svrhe predstavlja uobičajeno dugotrajan proces. Ujedno, značajka enzimske detoksifikacije je da enzimi, budući predstavljaju proteine, mogu uzrokovati različite alergijske reakcije te su prije odobravanja za primjenu potrebna istraživanja i o njihovom alergenom potencijalu (EFSA, 2009).

Zaključci i budući aspekti

Primjena bioloških metoda može dovesti do transformacije mikotoksina iz hrane i hrane za životinje u manje toksične derivate, rezultirajući pritom detoksifikacijom ovih kontaminata. Međutim, dosadašnja istraživanja nisu rezultirala mogućom primjenom u industriji odnosno odobravanjem primjene ovih metoda od strane zakonodavstva. Još uvijek su nedostatne informacije o mehanizmima transformacije mikotoksina, toksičnosti produkata koji pritom nastaju te o učincima reakcija transformacije na nutritivnu vrijednost hrane i hrane za životinje.

Svakako, u čim skorijoj budućnosti potrebna su intenzivna istraživanja u ovom području, budući primjena mikrobnе detoksifikacije mikotoksina u hrani i hrani za životinje predstavlja obećavajuću strategiju s obzirom na specifičnost, učinkovitost, ireverzibilnost te okolišnu prihvatljivost ovih metoda. Ujedno, dosadašnja istraživanja ne ukazuju na nastanak toksičnih produkata, što je vrlo značajno, ali rezultati provedenih istraživanja pokazuju i da je primjena bioloških metoda detoksifikacije mikotoksina u hrani i hrani za životinje ograničena zbog pojedinih čimbenika, kao što su složeni postupci dobivanja aktivnih ekstrakata, dugo vrijeme inkubacije nužno za detoksifikaciju te necjelovito provedena detoksifikacija. Inovativne tehnike i strategije, kao što su obogaćivanje, uporaba visoko selektivnih medija i učinkovite molekularne tehnike, mogu povećati mogućnost odabira ciljnih mikroorganizama iz složene mikroflore primjenjivih u ove svrhe.

Od velikog interesa je provedba daljnjih istraživanja usmjerenih na probiotičke bakterije, koje bi se mogle izravno primijeniti na hrani i hrani za životinje. Osim toga i uporaba pročišćenih enzima, koji su izolirani iz bakterija, kvasaca,

plijesni i biljaka, daje mogućnost učinkovite degradacije mikotoksina, ali se njihova aktivnost mora potvrditi *in vitro* i *in vivo* testovima, budući da svaka enzimska reakcija ne dovodi do stvarne detoksifikacije, jer metabolizirani mikotoksin može biti toksičniji od roditeljskog spoja. Potrebna su daljnja istraživanja o mehanizmima biorazgradnje, sigurnosti mikroorganizama odnosno utjecaju primjene ovih metoda na nutritivna svojstva i nastale produkte degradacije, kako bi biološke metode detoksifikacije mikotoksina mogle biti učinkovito primjenjene u prehrambenoj industriji i industriji stočne hrane.

Zahvala

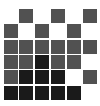
Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom „Mikotoksini u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima: molekularna identifikacija plijesni producenata i procjena izloženost potrošača“ (IP-2018-01-9017).

Literatura

- Abrunhosa L., Paterson R.R.M., Venancio A. (2010) Biodegradation of ochratoxin A for food and feed decontamination. *Toxins*, 2 1078–1099.
- Ahlberg S.H., Joutsjoki V., Korhonen H.J. (2015) Potential of lactic acid bacteria in aflatoxin risk mitigation. *International Journal of Food Microbiology*, 207 87–102.
- Aiko V., Edamana P., Mehta A. (2016) Decomposition and detoxification of aflatoxin B₁ by lactic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96 1959–1966.
- Alberts J.F., Gelderblom W.C.A., Botha A, van Zyl W.H. (2009) Degradation of aflatoxin B₁ by fungal laccase enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 135 47–52.
- Altug T., Youssef A.E., Marth E.H. (1990) Degradation of aflatoxin B₁ in dried figs by sodium bisulfite with or without heat, ultraviolet energy or hydrogen peroxide. *Journal of Food Protection*, 53 581–628.
- Awad W.A., Ghareeb K., Böhm J., Zentek J. (2010) Decontamination and detoxification strategies for the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol in animal feed and the effectiveness of microbial biodegradation. *Food Additives and Contaminants*, 27 510–520.
- Banu I., Lupu A., Aprodu I. (2013) Degradation of zearalenone by laccase enzyme. *Scientific Study & Research*, 14 79–84.
- Bhatnagar D., Lillehoj E.B., Bennett J.W. (1991) Biological detoxification of mycotoxins. U: Smith, J.E., Henderson, R.S. (ed): *Mycotoxins and Animal Foods*, str. 816–826. CRC Press, Boston, USA.
- Blackwell B.A., Gilliam J.T., Savard M.E., Miller D., Duvick J.P. (1999) Oxidative deamination of hydrolyzed fumonisin B(1) (AP(1)) by cultures of *Exophiala spinifera*. *Natural Toxins*, 7 31–38.
- Bong J.P., Kosuke T., Yoshiko S.K., Ik-Hwi K., Mi-Hee L., Dong-Wook H., Kie-Hyung C., Soon O.H., Jong-Chul P. (2007) Degradation of mycotoxins using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure. *Surface and Coatings Technology*, 201 5733–5737.



- Boudergue C., Burel C., Dragacci S., Favrot M., Fremy J., Massimi C., Prigent P., Debongnie P., Pussemier L., Boudra H., Morgavi D., Oswald I., Perez A., Avantiaggiato G. (2009) Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety. *EFSA Supporting Publications*, 6.
- Bretz M., Beyer M., Cramer B., Knecht A., Humpf H.-U. (2006) Thermal degradation of the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 6445–6451.
- Bryden W.L. (2012) Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology*, 173 134–158.
- Charmley L.L., Prelusky D.B. (1994) Decontamination of *Fusarium* mycotoxins. U: Miller J.D., Trenholm H.L. (ed): *Mycotoxins in Grain*, str. 421–435. Eagan Press, St Paul, USA.
- Charmley L.L., Trenholm H.L., Prelusky D.B., Rosenberg A. (1995) Economical losses and decontamination. *Natural Toxins*, 3 199–203.
- Cheli F., Pinotti L., Rossi L., Dell'Orto V. (2013) Effect of milling procedures on mycotoxin distribution in wheat fractions: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 54 307–314.
- Chitrangada D., Mishra H.N. (2000) In vitro degradation of aflatoxin B₁ by horseradish peroxidase. *Food Chemistry*, 68 309–313.
- Ciegler A., Lillehoj E.B., Peterson R.E., Hall H.H. (1966) Microbial detoxification of aflatoxin. *Applied Microbiology*, 14 934–939.
- Commission Regulation 2015/786/EU Defining acceptability criteria for detoxification processes applied to products intended for animal feed as provided for in Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council. Available online: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/eur144560.pdf>. (pristupljeno: 3. prosinca 2018).
- Creppy E. (2002) Update on survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127 19–28.
- De Bellis P., Tristezza M., Haidukowski M., Fanelli F., Sisto A., Mulè G., Grieco F. (2015) Biodegradation of ochratoxin A by bacterial strains isolated from vineyard soils. *Toxins*, 7 5079–5093.
- Dobritzsch D., Wang H., Schneider G., Yu S. (2014) Structural and functional characterization of ochratoxinase, a novel mycotoxin-degrading enzyme. *Biochemical Journal* 462 441–452.
- Dorner J.W. (2004) Biological control of aflatoxin contamination of crops. *Toxin Reviews*, 23 425–450.
- Duvick J. (2001) Prospects for reducing fumonisin contamination of maize through genetic modification. *Environmental Health Perspectives*, 109 337–342.
- el-Sharkawy S., Abul-Hajj Y.J. (1988) Microbial cleavage of zearalenone. *Xenobiotica*, 18 365–371.
- European Food Safety Authority (EFSA) (2009) Guidance on the submission of a Dossier on food enzymes for safety evaluation by the scientific panel of food contact material, enzymes, flavourings and processing aids. *EFSA Journal*, 1305 1–26.
- European Food Safety Authority (EFSA) (2014) Scientific opinion on the safety and efficacy of fumonisin esterase (FUMzyme®) as a technological feed additive for pigs. *EFSA Journal*, 12 3667.
- Fanelli F., Geisen R., Schmidt-Heydt M., Logrieco A.F., Mulè G. (2016) Light regulation of mycotoxin biosynthesis: New perspectives for food safety. *World Mycotoxin Journal*, 9 129–146.
- FAO/WHO (2003) Codex Alimentarius: CAC/RCP 50—Code of practice for the prevention and reduction of patulin contamination in apple juice and apple juice ingredients in other beverages. Food and Agriculture Organization. http://www.fao.org/input/download/standards/405/CXP_050e.pdf. (pristupljeno: 21. prosinca 2018).
- Fouler S.G., Trivedi A.B., Kitabatake N. (1994) Detoxification of citrinin and ochratoxin A by hydrogen peroxide. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 77 631–637.
- Geraldo M.R.F., Tessmann D.J., Kimmelmeier C. (2006) Production of mycotoxins by *Fusarium graminearum* isolated from small cereals (wheat, triticale and barley) affected with scab disease in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37 58–63.
- Glenn A.E. (2007) Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 137 213–240.
- Hackbart H.C.S., Machado A.R., Christ-Ribeiro A., Prietto L., Badiale-Furlong E. (2014) Reduction of aflatoxins by *Rhizopus oryzae* and *Trichoderma reesei*. *Mycotoxin Research*, 30 141–149.
- Hassan Y.I., Bullerman L.B. (2013) Cell-surface binding of deoxynivalenol to *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* isolated from sourdough starter culture. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2 2323–2325.
- Hassan Y.I., Zhou T., Bullerman L.B. (2015) Sourdough lactic acid bacteria as antifungal and mycotoxin-controlling agents. *Food Science and Technology International*, 22 79–90.
- Hathout A.S., Aly S.E. (2014) Biological detoxification of mycotoxins: a review. *Annals of Microbiology*, 64 905–919.
- He J.W., Bondy G.S., Zhou T., Caldwell D., Boland G.J., Scott P.M. (2015) Toxicology of 3-epideoxynivalenol, a deoxynivalenol-transformation product by *Devosia mutans* 17-2-E-8. *Food and Chemical Toxicology*, 84 250–259.
- He J.W., Hassan Y.I., Perilla N., Li X.Z., Boland G.J., Zhou T. (2016) Bacterial epimerization as a route for deoxynivalenol detoxification: the influence of growth and environmental conditions. *Frontiers in Microbiology*, 7 572.
- Heinl S., Hartinger D., Thamhesl M., Vekiru E., Krska R., Schatzmayr G., Moll W.-D., Grabherr R. (2010) Degradation of fumonisin B₁ by the consecutive action of two bacterial enzymes. *Journal of Biotechnology* 145 120–129.
- Herzallah S., Al Shawabkeh K., Al Fataftah A. (2008) Aflatoxin decontamination of artificially contaminated feeds by sunlight, γ -radiation, and microwave heating. *Journal of Applied Poultry Research*, 17 515–521.
- Ito M., Sato I., Ishizaka M., Yoshida S., Koitabashi M., Yoshida S., Tsushima S. (2013) Bacterial cytochrome P450 system catabolizing the *Fusarium* toxin deoxynivalenol. *Applied and Environmental Microbiology*, 79 1619–1628.
- Jakopović Ž., Čanak I., Romac A., Kuharić Ž., Bošnić J., Frece J., Pavlek Ž., Markov K. (2018) Usporedba veza nja AFM₁ iz mlijeka živim, mrtvim i liofiliziranim stanicama



BMK. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 13 32-37.

Jard G., Liboz T., Mathieu F., Guyonvarc'h A., Lebrihi A. (2011) Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxification by adsorption or transformation. *Food Additives and Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 28 1590-1609.

Ji C., Fan Y., Zhao L. (2016) Review on biological degradation of mycotoxins. *Animal Nutrition*, 2 127-133.

Joannis-Cassan C., Tozlovanu M., Hadjeba-Medjdoub K., Ballet N., Pfohl-Leszkwicz A. (2011) Binding of zearalenone, aflatoxin B₁, and ochratoxin A by yeast-based products: A method for quantification of adsorption performance. *Journal of Food Protection*, 74 1175–1185.

Karlovsky P. (1999) Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed and food production. *Natural Toxins*, 7 1–23.

Karlovsky P. (2011) Biological detoxification of the mycotoxin deoxynivalenol and its use in genetically engineered crops and feed additives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91 491–504.

Karlovsky P. (2014) Enzymatic detoxification of mycotoxins for healthy food. *New Food*, 17 66–69.

Karlovsky P., Suman M., Berthiller F., De Meester J., Eisenbrand G., Perrin I., Oswald, I.P., Speijers G., Chiodini A., Recker T., Dussort P. (2016) Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin Research*, 32 179-205.

Kriz P., Petr B., Zbynek H., Jaromir K., Pavel O., Petr S., Miroslav D. (2015) Influence of plasma treatment in open air on mycotoxin content and grain nutrients. *Plasma Medicine*, 5 145–158.

Kushiro M. (2008) Effects of milling and cooking processes on the deoxynivalenol content in wheat. *International Journal of Molecular Sciences*, 9 2127–2145.

Liu D.L., Yao D.S., Liang R., Ma L., Cheng W.Q., Gu L.Q. (1998) Detoxification of aflatoxin B₁ by enzymes isolated from *Armillariella tabescens*. *Food and Chemical Toxicology*, 36 563–574.

Maeba H., Takamoto Y., Kamimura M.I., Miura T.O. (1988) Destruction and detoxification of aflatoxins with ozone. *Journal of Food Science*, 53 667–668.

Miller J.D. (2016) Mycotoxins in food and feed: a challenge for the 21st century. U: Li D.-W. (ed): *Biology of Microfungi*, str. 469–493. Springer International Publishing, Cham, Švicarska.

Moss M.O., Long M.T. (2002) Fate of patulin in the presence of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Additives and Contaminants*, 19 387–399.

Müller H.M. (1983) Entgiftung von Mykotoxinen: II. Chemische Verfahren und Reaktion mit Inhaltsstoffen von Futtermitteln. *Übersichten zur Tierernährung*, 11 47–80.

Murugesan G.R., Ledoux D.R., Naehrer K., Berthiller F., Applegate T.J., Grenier B., Phillips T.D., Schatzmayr G. (2015) Prevalence and effects of mycotoxins on poultry health and performance, and recent development in mycotoxin counteracting strategies. *Poultry Science*, 94 1298–1315.

Nakazato M., Morozumi S., Saito K., Fujinuma K., Nishima T., Kasai N. (1990) Interconversion of aflatoxin B₁ and aflatoxin

by several fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 56 1465–1470.

Nesci A.V., Bluma R.V., Etcheverry M.G. (2005) In vitro selection of maize rhizobacteria to study potential biological control of *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxin production. *European Journal of Plant Pathology*, 113 159-171.

Niderkorn V., Boudra H., Morgavi D.P. (2006) Binding of *Fusarium* mycotoxins by fermentative bacteria *in vitro*. *Applied and Environmental Microbiology*, 101, 849-856.

Numanoglu E., Gökmen V., Uygun U., Koksel H. (2012) Thermal degradation of deoxynivalenol during maize bread baking. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29 423-430.

Palumbo J.D., Baker J.L., Mahoney N.E. (2006) Isolation of bacterial antagonists of *Aspergillus flavus* from almonds. *Microbial Ecology*, 52 45-52.

Park D.L., Lee L.S., Price R.L., Pohland A.E. (1988) Review of the decontamination of aflatoxins by ammoniation: Current status and regulation. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 71 685–703.

Petrucci L., Bevilacqua A., Baiano A., Beneduce L., Corbo M.R., Sinigaglia M. (2014) In vitro removal of ochratoxin A by two strains of *Saccharomyces cerevisiae* and their performances under fermentative and stressing conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 116 60–70.

Peromingo B., Rodríguez F.N.A., Alía A., Andrade M.J. (2018) Potential of yeasts isolated from dry-cured ham to control ochratoxin A production in meat models. *International Journal of Food Microbiology*, 268 73-80.

Pfiegler W.P., Pusztahelyi T., Poci I. (2015) Mycotoxins: prevention and decontamination by yeasts. *Journal of Basic Microbiology*, 55 805–813.

Piotrowska M. (2014) The adsorption of ochratoxin A by *Lactobacillus* species. *Toxins*, 6 2826–2839.

Pioneer Hi-Bred International, Inc. Fumonisin-Detoxifying Enzymes. World Patent 1996006175, patent 11 August 1995.

Pleadin J., Kiš M., Frece J., Markov K. (2018) Primjena fizikalnih i kemijskih metoda u uklanjanju mikotoksina iz hrane i hrane za životinje. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 12 24-31.

Pleadin J., Markov K., Frece J. (2014a) Aflatoksini - Onečišćenje, učinci i metode redukcije. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 9 75-82.

Pleadin J., Markov K., Frece J., Vulić A., Perši N. (2014b) Bio-Prevalence, determination and reduction of aflatoxin B₁ in cereals. U: Adina G. (ed): *Aflatoxins: Food Sources, Occurrence and Toxicological Effects*, str. 1-34. Faulkner, Nova Science Publishers, USA.

Popiel D., Koczyk G., Dawidziuk A., Gromadzka K., Blaszczyk L., Chelkowski J., (2014) Zearalenone lactone hydrolase activity in *Hypocreales* and its evolutionary relationships within the epoxide hydrolase subset of a/b-hydrolases. *BMC Microbiology*, 14 82.

Reddy K.R.N., Farhana N.I., Salleh B., Oliveira C.A.F. (2010) Microbiological control of mycotoxins: Present status and future concerns. U: Méndez-Vilas A. (ed): *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, str. 1078-1086. Formatex Research Center, Badajoz, Španjolska.



- Saladino F., Luz C., Manyes L., Fernandez-Franz M., Meca G. (2016) In vitro antifungal activity of lactic acid bacteria against mycotoxigenic fungi and their application in loaf bread shelf life improvement. *Food Control*, 67 273–277.
- Sato I., Ito M., Ishizaka M., Ikunaga Y., Sato Y., Yoshida S., Koitabashi M., Tsushima S. (2012) Thirteen novel deoxyribovalenol-degrading bacteria are classified within two genera with distinct degradation mechanisms. *FEMS Microbiology Letters*, 327 110–117.
- Schatzmayr G., Streit E. (2013) Global occurrence of mycotoxins in the food and feed chain: facts and figures. *World Mycotoxin Journal*, 6 213–222.
- Schlüter O., Ehlbeck J., Hertel C., Habermeyer M., Roth A., Engel K.H., Holzhauser, T., Knorr D., Eisenbrand G. (2013) Opinion on the use of plasma processes for treatment of foods. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57 920–927.
- Schothorst R.C., van Egmond H.P. (2004) Report from SCOOP task 3.2.10 “Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states”. Subtask: trichothecenes. *Toxicology Letters*, 153 133–143.
- Sforza S., Dall’Astra C., Marchelli R. (2006) Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 25 54–76.
- Shanakhat H., Sorrentino A., Raiola A., Romano A., Masia P., Cavella S. (2018) Current methods for mycotoxins analysis and innovative strategies for their reduction in cereals: an overview. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98 4003–4013.
- Smiley R.D., Draughon F.A. (2000) Preliminary evidence that degradation of aflatoxin B₁ by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic. *Journal of Food Protection*, 63 415–418.
- Tan H., Hu Y., He J., Wu L., Liao F., Luo B., He Y., Zuo Z., Ren Z., Zhong Z., Peng G., Deng J. (2014) Zearalenone degradation by two *Pseudomonas* strains from soil. *Mycotoxin Research*, 30 191–196.
- Teniola O.D., Addo P.A., Brost I.M., Farber P., Jany K.D., Alberts J.F., van Zyl W.H., Steyn P.S., Holzappel W.H. (2005) Degradation of aflatoxin B₁ by cell-free extracts of *Rhodococcus erythropolis* and *Mycobacterium fluoranthenorans* sp. nov. DSM44556(T). *International Journal of Food Microbiology*, 105 111–117.
- Teuber M. (1993) Genetic engineering techniques in food microbiology and enzymology. *Food Reviews International*, 9 389–409.
- Topcu A., Bulat T., Wishah R., Boyacı I.H. (2010) Detoxification of aflatoxin B₁ and patulin by *Enterococcus faecium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 139 202–205.
- Utermark J., Karlovsky P. (2007) Role of zearalenone lactonase in protection of *Gliocladium roseum* from fungitoxic effects of the mycotoxin zearalenone. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 637–642.
- Vanhoutte I., Audenaert K., De Gelder L. (2016) Biodegradation of Mycotoxins: Tales from Known and Unexplored Worlds. *Frontiers in Microbiology*, 7 561.
- Vekiru E., Hametner C., Mitterbauer R., Rechthaler J., Adam G., Schatzmayr G., Krska R., Schuhmacher R. (2010) Cleavage of zearalenone by *Trichosporon mycotoxinivorans* to a novel nonestrogenic metabolite. *Applied and Environmental Microbiology*, 76 2353–2359.
- Wang J., Ogata M., Hirai H., Kawagishi H. (2011) Detoxification of aflatoxin B₁ by manganese peroxidase from the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624. *FEMS Microbiology Letters*, 314 164–169.
- Whitehurst R.J., van Oort M. (ed) (2010) *Enzymes in food technology*. Blackwell Publishing Ltd, Singapore.
- Zhu R., Feussner K., Wu T., Yan F., Karlovsky P., Zheng X. (2015b) Detoxification of mycotoxin patulin by the yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *Food Chemistry*, 179 1–5.
- Zhu R., Yu T., Guo S., Hu H., Zheng X., Karlovsky P. (2015a) Effect of the yeast *Rhodospiridium paludigenum* on postharvest decay and patulin accumulation in apples and pears. *Journal of Food Protection*, 78 157–163.
- Zhu Y., Hassan Y.I., Watts C., Zhou T. (2016) Innovative technologies for the mitigation of mycotoxins in animal feed and ingredients: a review of recent patents. *Animal Feed Science and Technology*, 216 19–29.